

## دور التلويينات النسيجية الكيماوية المناعية p53, Ki-67, Bcl-2 في انذار سرطان القولون والمستقيم

د. عيسى يوسف أحمد\*

د. علي كامل داود\*\*

رينا مالك صالح\*\*\*

(تاريخ الإيداع 22 / 2 / 2021. قُبِلَ للنشر في 5 / 4 / 2021)

### □ ملخص □

**الخلفية:** ترتفع معدلات الإصابة بسرطان القولون والمستقيم مع مرور الزمن، فهو اشيع سبب للوفيات من السرطان بعد سرطان الرئة. ومعدل البقاء لمدة 5 سنوات مايزال ضعيفا.

**الطريقة:** قمنا بسبر حالة التلويينات النسيجية الكيماوية المناعية (IHC) التالية p53, Ki-67, Bcl-2 في 80 حالة سرطان قولون ومستقيم موزعين على الأعوام 2017-2019 من مراجعي مستشفى تشرين الجامعي. تم دراسة علاقة IHC بعوامل الإنذار: العمر، حجم ومرحلة الورم، الدرجة والنمط النسيجي، وجود أو عدم وجود نقائل لمفية أو بعيدة. أنجزت الدراسة الاحصائية التحليلية المقطعية باستعمال البرنامج SPSS

**النتائج:** حجم الأورام لدى نصف الحالات <5 سم، 60% من الأورام كانت في الجهة اليسرى، ظهرت النقائل في العقد اللمفية في 53.75% من الحالات، عانى 10% من المرضى من نقائل بعيدة عند التشخيص، نتائج التلويينات النسيجية الكيماوية المناعية على النحو التالي p53 (إيجابي 48.75%)، Bcl-2 (إيجابي 55%) الإيجابية الشديدة Ki-67 بنسبة 26.25%.

**الخلاصة:** يشير وجود الإيجابية الشديدة ل P53, Ki-67 إلى زيادة السلوك البيولوجي العدوانى، مما يستدعي التعامل الهجومي الفعال مع هذه الأورام لتحسين الإنذار. تشير الإيجابية المرتفعة ل Bcl2 الى الانذار الجيد لسرطان القولون والمستقيم

**الكلمات المفتاحية:** سرطان غدية، قولون ومستقيم، تلويينات نسيجية كيماوية مناعية، الإنذار

\* أستاذ - قسم التشريح المرضي - كلية الطب البشري - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية

\*\* أستاذ مساعد - قسم التشريح المرضي - كلية الطب البشري - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية.

\*\*\* طالبة دراسات عليا (ماجستير) - قسم التشريح المرضي في كلية الطب البشري - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية

## The role of immunohistochemistry P53, Ki-67, Bcl-2 In colorectal carcinoma prognosis

Dr. Issa Youssef Ahmed\*  
Dr. Ali Kamel Dawood\*\*  
Rina Malik Saleh\*\*\*

(Received 22 / 2 / 2021. Accepted 5 / 4 / 2021)

### □ ABSTRACT □

**BACKGROUND:** The incidence of colorectal cancer is rising over time, as it is the most common cause of cancer deaths after lung cancer. And the survival rate of 5 years is weak.

**METHODS:** We investigated the following IHC status p53, Ki-67, Bcl-2 in 80 colorectal cancer cases distributed over the years 2017-2019 from Tishreen University Hospital reviewers. The relationship of IHC prevalence to prognostic factors: age, tumor size, stage, grade, histological pattern, and presence of distant or lymph metastases. The cross-sectional statistical study was completed by using the SPSS program.

**RESULTS:** the tumor size in half of the cases >5 cm, 60% of the tumors were on the left side, metastases appeared in the lymph nodes in 53.75% of the cases, 10% of the patients suffered from distant metastases upon diagnosis, the results of IHC staining are as follows p53 (positive 48.75%), Bcl-2 (positive 55%) and severe positive Ki-67, 26.25%.

**CONCLUSION:** The presence of strong positivity Ki-67, P53 indicates an increase in aggressive biological behavior, which calls for effective aggressive treatment with these tumors to improve the prognosis. Bcl2 high expression correlated with good prognosis in CRC

**Key words:** adenocarcinoma, colon, rectum, immunohistochemistry, prognosis.

\*Professor - Department of Pathological Anatomy - College of Human Medicine - Tishreen University - Lattakia - Syria

\*\*Assistant Professor - Department of Pathological Anatomy - College of Human Medicine - Tishreen University - Lattakia - Syria.

\*\*\*Postgraduate student (Master) - Department of Pathological Anatomy at the College of Human Medicine - Tishreen University - Lattakia - Syria

## مقدمة

يعد سرطان القولون والمستقيم مرض هام مع ارتفاع معدلات الإصابة والوفيات، وعلى الرغم من تقدم التشخيص والعلاج بشكل ملحوظ في السنوات العشر الأخيرة إلا أن انتشاره يزداد ومعدل البقاء 5 سنوات لا يزال ضعيفا. فهو أشيع سبب للوفيات من السرطان بعد سرطان الرئة ويحتل المرتبة الثالثة من السرطانات الأكثر شيوعا بعد سرطان البروستات والرئة عند الرجال وسرطان الثدي والرئة عند النساء. على الصعيد العالمي، توجد أعلى معدلات الإصابة في أستراليا ونيوزيلندا وأوروبا وأمريكا الشمالية، وأدناها توجد في أفريقيا وجنوب آسيا الوسطى. تعزى هذه الاختلافات الجغرافية إلى الاختلافات في التعرضات الغذائية والبيئية، يرتبط الوضع الاجتماعي والإقتصادي المنخفض أيضا بزيادة خطر تطور السرطان [ 1 ] حيث تشير التقديرات الى 1.8 مليون حالة جديدة وحوالي 861000 حالة وفاة في 2018 وفقاً لقاعدة بيانات Globocan التابعة لمنظمة الصحة العالمية. معظم الأشخاص الذين يصابون بسرطان القولون لا تظهر لديهم أية اعراض في المراحل المبكرة من المرض. وحين تبدأ الأعراض بالظهور تكون مرتبطة بحجم الورم السرطاني وموقعه داخل القولون. [3,2] العوامل التي تزيد من احتمالية الإصابة بسرطان القولون والمستقيم العمر أكبر من 50 سنة، التهاب الأمعاء المزمن، المتلازمات الوراثية (Familial adenomatous polyposis – FAP و hereditary non-polyposis colorectal cancer) [4, 5, 6, 7] أكثر من 90 % من سرطانات القولون والمستقيم هي أورام غدية تنشأ من الخلايا الظهارية الغدية المبطنة للقولون والمستقيم. وفقاً لتصنيف منظمة الصحة العالمية (WHO) عام 2010، يمكن تصنيف سرطان القولون والمستقيم الى عدة أنماط نسيجية اعتمادا على شكلها أو مورفولوجيا الخلايا [ 8 ]

يتم تشخيص سرطان القولون والمستقيم CRC Diagnosis [10,9] بعدة طرق 1-اختبار الدم الخفي في البراز Occult blood test، 2-اختبار الحمض النووي الريبوزي المنزوع الأكسجين (دنا) من عينة براز Deoxyribonucleic acid – DNA، 3-تنظير القولون الجزئي، 4-تنظير القولون الكامل Colonoscopy، 5-حقنة الباريوم (Barium enema): 6-تنظير القولون الافتراضي بواسطة جهاز التصوير المقطعي المحوسب Virtual colonoscopy، 7-التقييم النسيجي لسرطان القولون والمستقيم CRC Histologic Evaluation ، 8-التلويحات النسيجية الكيماوية المناعية (Ki-67، Bcl-2، P53) تفيد في التكهّن بالسلوك البيولوجي للورم.

## أهمية البحث وأهدافه

### أهمية البحث

تتبع أهمية الدراسة مما يلي:

- 1-توفر دراسة الواسمات فهم أفضل للسلوك المحتمل للورم أو عدوانيته، يرتبط سلوك الورم البيولوجي بما يلي: نمو الورم، ارتشاحه وانتشاره، وتكاثر خلايا سرطان القولون والمستقيم. لا يزال هناك الكثير من الجدل حول صحة وفعالية تعبير خلايا سرطان القولون والمستقيم النسيجية الكيماوية المناعية باعتبارها مؤشر للإندار العام للمرضى. [11]
- 2-من هنا تأتي أهمية استقصاء العلاقة بين التلويحات النسيجية الكيماوية المناعية وكل مما يلي: مرحلة الورم، التوزع العمري، الجنسي، النمط والدرجة النسيجية لسرطان القولون والمستقيم.

3- لم يتم سابقاً رصد التلويحات النسيجية الكيماوية المناعية لسرطانات القولون والمستقيم وسبر علاقاتها مع عوامل الإنذار لدى مرضى مستشفى تشرين الجامعي.

### هدف البحث

دراسة علاقة التلويحات النسيجية الكيماوية المناعية المدروسة مع عوامل الإنذار (العمر، الجنس، النمط النسيجي، درجة ومرحلة الورم، النقائل للمفاوية والبعيدة).

### طرائق البحث ومواده

شملت عينة البحث 80 مريضاً (43 ذكر، 37 أنثى) لديهم سرطان القولون والمستقيم، جميع المرضى من مراجعي قسم التشريح المرضي في مستشفى تشرين الجامعي في اللاذقية خلال الفترة الممتدة من عام 2017 ولغاية 2019، قمنا بالدراسة العيانية للعينات المستأصلة (توضع الورم، حجم الورم، ارتشاح الورم لجدار الأمعاء أو للبريتوان، وجود أو عدم وجود عقد لمفية مصابة)، ثم درست نسيجياً بأخذ مقاطع عديدة وصيها في الشمع و من ثم تلويها روتينياً بالهيماتوكسيلين وايوزين (H&E) في المخبر، ودرستها بالمجهر الضوئي، أخذنا المعلومات الموجودة في تقارير التشريح المرضي، تم بعد ذلك اختيار المقاطع لإجراء التلويحات النسيجية الكيماوية المناعية التالية p53, Ki-67, Bcl-2

اعتمد تصنيف منظمة الصحة العالمية لعام 2010 النسيجي، تم تصميم الإحصاء على طريقة الدراسة التحليلية المقطعية (Analytic Study ( Cross Sectional)، باستخدام قوانين الإحصاء الوصفي على المتغيرات المدروسة، تم اعتماد  $\alpha=5\%$ ،  $\text{Power of Study}=80\%$ ، مقاييس النزعة المركزية ومقاييس التشتت للمتغيرات الكمية quantitative، التكرارات والنسب المئوية للمتغيرات النوعية qualitative، اخترنا اختبار Chi-square Or Fisher exact للدراسة العلاقة بين المتغيرات الكيفية. تعتبر النتائج هامة احصائياً عندما تكون مستوى الدلالة  $p\text{-value} < 0.05$  أنجزت الدراسة الإحصائية باستخدام البرنامج IBM SPSS statistics (Version 20) لحساب المعاملات الاحصائية وتحليل النتائج.

### النتائج والمناقشة

#### النتائج

بلغت نسبة الذكور 53.75% والإناث 46.25%، لا يوجد فارق ذو قيمة إحصائية للتوزع حسب الجنس ( $p\text{-value}=0.6$ ). تراوحت أعمار مرضى عينة البحث 28-90 سنة وبلغ وسطي أعمارهم Median = 65 سنة. توزعت عينة البحث بالتساوي ما بين الفئتين ( $\geq 65$  و  $< 65$  سنة) العمريتين بنسبة 50% لكل فئة. نسبة حجم الأورام  $\geq 5$  سم 50%. نسبة حصول الورم في الجهة اليسرى (القولون الأيسر، السيني والمستقيم) 60%.

عيانياً كانت معظم السرطانات ناتئة سليلية ضمن اللمعة، سطحها بوليبي خشن الأشكال (13، 14)، بعضها كان متفرح المركز ومرتفع الحواف الشكل (15)، سطح المقطع أبيض رمادي الشكل (24)، تغزو طبقات الجدار بدرجات مختلفة، والبعض منها يصل إلى الغلالة الخارجية وشحم المساريقا الأشكال (20، 21). المظاهر النسيجية الغالبة هي سرطانه غدية صنفت في ثلاث مجموعات، تضم الأولى سرطانه غدية adenocarcinoma (النمط الزواني الغربالي

النمط ، Micropapillary carcinoma، الحليمات الدقيقة، Cribriform comedo type adenocarcinoma اللبي ، Medullary carcinoma، والنمط المسنن ( Serrated adenocarcinoma ) الأشكال (17، 18، 19، 22)، تحوي المجموعة الثانية السرطانة الغدية المخاطية mucinous adenocarcinoma لها المظهر الجيلاتيني وبحيرات من المفرزات تسبح ضمنها المركبات السرطانية الشكل (16)، تتكون المجموعة الثالثة من سرطانها خلايا الخاتم ذات الفص signet ring cell carcinoma حيث المخاط داخل الخلايا أكثر منه خارج الخلايا الشكل (25). نلاحظ أن النمط النسيجي الغالب كان السرطانة الغدية بأشكالها المختلفة وملتت 98.75% من عينة البحث المدروسة. نلاحظ أن 67.5% من عينة البحث المدروسة كانت من الدرجة النسيجية G2 متوسطة التمايز، نسبة الأورام جيدة ومتوسطة التميز (G2،G1) 90%. نسبة 68.75% من عينات البحث المدروسة كانت في مرحلة الورم PT3. معظم الحالات تنتمي إلى مراحل متقدمة (PT4،PT3) من غزو جدار الأمعاء 96%. عانى أكثر من نصف المرضى من نقائل لمفية عند التشخيص والعلاج 53.75%. وجدت فقط 8 حالات (10%) مع نقائل بعيدة عند التشخيص. الجدول (1).

الجدول (1) توزع المرضى بحسب معايير الجنس، العمر، حجم وتوضع الورم، النمط النسيجي والدرجة النسيجية، وتصنيف الحالات بحسب PTNM

العدد الكلي	النسبة	العدد	تفاصيل الصفة	المعيار الموصوف
80	46.25%	37	♀	الجنس
	53.75%	43	♂	
80	50%	40	65≥	العمر
	50%	40	65<	
80	50%	40	5سم≥	حجم الورم
	50%	40	5سم<	
80	30%	24	القولون السيني	توضع الورم
	25%	20	المستقيم	
	21.25%	17	الأعور والقولون الايمن	
	5%	4	القولون الأيسر	
	12.5%	10	القولون المعترض	
	6.25%	5	غير محدد	
80	98.75%	79	سرطانها غدية	النمط النسيجي
	1.25%	1	سرطانها شائكة الخلايا	
80	22.5%	18	G1	الدرجة النسيجية

	67.5%	54	G2	
	8.75%	7	G3	
	1.25%	1	G4	
80	3.75%	3	PT2	مرحلة تطور غزو جدار الأمعاء
	68.75%	55	PT3	
	27.5%	22	PT4	
80	46.25%	37	N0	وجود نقائل لمفية
	38.75%	31	N1	
	15%	12	N2	
80	10%	8	M1	النقائل البعيدة
	90%	72	M x	

بعد تطبيق التلوينات النسيجية الكيماوية المناعية ( p53, Ki-67, Bcl-2 ) على عينة البحث المدروسة لاحظنا أن 55% من العينة كانت ايجابية Bcl-2، و 48.75% كانت ايجابية P53، أظهر 73.75% من العينة ايجابية Ki-67 بمعدل غزارة الانقسامات >20% و 26.25% من العينة ≤ 20%. الجدول (2) والشكل (2)

جدول (2) يظهر نتيجة التلوينات النسيجية الكيماوية المناعية في عينة 80 مريضاً من مراجعي قسم التشريح المرضي في مستشفى تشرين الجامعي في اللاذقية خلال الفترة 2017- 2019

نتيجة التلوينات المناعية	العدد	النسبة
Ki-67		
<20%	59	73.75%
≥20%	21	26.25%
P53		
إيجابي	39	48.75%
سلبي	41	51.25%
Bcl-2		
إيجابي	44	55%
سلبي	36	45%



الشكل (1) نتيجة التلويحات النسيجية الكيماوية المناعية في عينة 80 مريضاً من مرجعي قسم التشريح المرضي في مستشفى تشرين الجامعي في اللاذقية خلال الفترة 2017- 2019

جدول (3) الربط ما بين تعبير P53 والمتغيرات المؤثرة على الانذار في عينة 80 مريضاً من مرجعي قسم التشريح المرضي في مستشفى تشرين الجامعي في اللاذقية خلال الفترة 2017- 2019.

المتغيرات	N	P53		P-value
		إيجابي	سلبى	
<u>الجنس</u>				0.3
ذكور	43	23(53.5%)	20(46.5%)	
إناث	37	16(43.2%)	21(56.8%)	
<u>العمر</u>				0.8
≤ 65	40	21(52.5%)	19(47.5%)	
>65	40	20(50%)	20(50%)	
<u>حجم الورم</u>				0.004
≤ 5	40	13(32.5%)	27(67.5%)	
>5	40	26(65%)	14(35%)	

<u>موقع الورم</u>				
الاعور. القولون الأيمن	17	10(58.8%)	7(41.2%)	0.01
القولون المعترض	10	5(50%)	5(50%)	
القولون الأيسر	4	3(75%)	1(25%)	
القولون السيني	24	13(54.2%)	11(45.8%)	
المستقيم	20	8(40%)	12(60%)	
غير محدد	5	0(0%)	5(100%)	
<u>مرحلة الورم</u>				
PT2	3	0(0%)	3(100%)	0.04
PT3	55	30(54.5%)	25(45.5%)	
PT4	22	7(31.8%)	15(68.2%)	
<u>النمط النسيجي</u>				
سرطان غدية	73	31(42.5%)	42(57.5%)	0.08
سرطان غدية مخاطية	4	3(83.3%)	1(16.7)	
سرطان خلايا الخاتم ذات الفص	2	0(0%)	2(100%)	
سرطان شائكة الخلايا	1	1(100%)	0(0%)	
<u>الدرجة النسيجية</u>				
G1	18	8(44.4%)	10(55.6%)	0.6
G2	54	29(53.7%)	25(46.3%)	
G3	7	3(42.9%)	4(57.1%)	
G4	1	0(0%)	1(100%)	
<u>حالة العقد اللمفية</u>				
N0				0.6
N1	37	21(56.8%)	16(43.2%)	
N2	31	16(51.6%)	15(48.4%)	
	12	8(66.7%)	4(33.3%)	
<u>نقائل بعيدة</u>				
M1	8	5(62.5%)	3(37.5%)	0.5
Mx	72	36(50%)	36(50%)	

جدول (4) الربط ما بين تعبير Bcl-2 والمتغيرات في عينة 80 مريضاً من مراجعي قسم التشريح المرضي في مستشفى تشرين الجامعي في اللاذقية خلال الفترة 2017-2019.

المتغيرات	N	Bcl-2		P-value
		ايجابي	سلبي	
<u>الجنس</u>				
ذكور	43	18(41.8%)	25(58.2%)	0.01
اناث	37	26(70.3%)	11(29.7%)	
<u>العمر</u>				
≤ 65	40	23(57.5%)	17(42.5%)	0.6
>65	40	21(52.5%)	19(47.5%)	
<u>حجم الورم</u>				
≤ 5	40	39(97.5%)	1(2.5%)	0.0001
>5	40	13(32.5%)	27(67.5%)	
<u>موقع الورم</u>				
القولون الأيمن	17	10(58.8%)	7(41.2%)	0.1
القولون المعترض	10	8(80%)	2(20%)	
القولون الأيسر	4	0(0%)	4(100%)	
القولون السيني	24	18(75%)	6(25%)	
المستقيم	20	5(25%)	15(75%)	
غير محدد	5	5(100%)	0(0%)	
<u>مرحلة الورم</u>				
PT2	3	3(100%)	0(0%)	0.003
PT3	55	36(65.4%)	19(34.6%)	
PT4	22	5(22.7%)	17(77.3%)	
<u>النمط النسيجي</u>				
سرطان غدية				0.2
سرطان غدية مخاطية	73	39(53.4%)	34(46.6%)	
سرطان خلايا الخاتم ذات	4	3(83.3%)	1(16.7%)	
الفص	2	0(0%)	2(100%)	
سرطان شائكة الخلايا	1	1(100%)	0(0%)	

<u>الدرجة النسيجية</u>				
G1	18	13(72.2%)	5(27.8%)	0.2
G2	54	29(53.7%)	25(46.3%)	
G3	7	3(42.8%)	4(57.2%)	
G4	1	0(0%)	1(100%)	
<u>حالة العقد اللمفية</u>				
N0	37	31(83.8%)	6(16.2%)	0.0001
N1	31	10(32.3%)	21(67.7%)	
N2	12	5(41.7%)	7(58.3%)	
<u>نقائل بعيدة</u>				
M1	8	3(37.5%)	5(62.5%)	0.2
Mx	72	41(56.9%)	31(43.1%)	

جدول (5) الربط ما بين تعبير Ki-67 والمتغيرات في عينة 80 مريضاً من مراجعي قسم التشريح المرضي في مستشفى تشرين الجامعي في اللاذقية خلال الفترة 2019-2017.

المتغيرات	N	Ki-67		P-value
		≥20%	<20%	
<u>الجنس</u>				
ذكور	43	13(30.2%)	30(69.8%)	0.7
اناث	37	10(27%)	27(73%)	
<u>العمر</u>				
≤ 65	40	13(32.5%)	27(67.5%)	0.4
>65	40	10(25%)	30(75%)	
<u>حجم الورم</u>				
≤ 5	40	13(32.5%)	27(67.5%)	0.4
>5	40	10(25%)	30(75%)	
<u>موقع الورم</u>	17	5(29.4%)	12(70.6%)	0.2
الأعور. القولون الأيمن	10	3(30%)	7(70%)	
القولون المعترض	4	1(25%)	3(75%)	

القولون الأيسر	24	13(54.2%)	11(45.8%)	
القولون السيني	20	3(15%)	17(85%)	
المستقيم	5	2(40%)	3(60%)	
غير محدد				
<u>مرحلة الورم</u>				
PT2	3	0(0%)	3(100%)	0.02
PT3	55	37(67.3%)	18(32.7%)	
PT4	22	17(77.3%)	5(22.7%)	
<u>النمط النسيجي</u>				
سرطان غدية				0.4
سرطان غدية مخاطية	73	21(28.8%)	52(71.2%)	
سرطان خلايا الخاتم ذات	4	2(50%)	2(50%)	
الفص	2	0(0%)	2(100%)	
سرطان شائكة الخلايا	1	0(0%)	1(100%)	
<u>الدرجة النسيجية</u>				
G1	18	10(55.6%)	8(44.4%)	0.4
G2	54	21(38.8%)	33(61.2%)	
G3	7	3(42.8%)	4(57.2%)	
G4	1	1(100%)	0(0%)	
<u>حالة العقد اللمفية</u>				
N0	37	21(56.8%)	16(43.2%)	0.04
N1	31	26(83.8%)	5(16.2%)	
N2	12	7(58.4%)	5(41.6%)	
<u>نقائل بعيدة</u>				
M1	8	3(37.5%)	5(62.5%)	0.7
Mx	72	23(32%)	49(68%)	

## المناقشة والمقارنة مع الدراسات العالمية

تضمنت عينة الدراسة 80 مريض. بداية قمنا بدراسة توزع المرضى وفق معايير مختلفة مثل العمر، الجنس، حجم الورم، موقع الورم، مرحلة الورم، الدرجة النسيجية، العقد اللمفية والنقائل البعيدة. لقد ثبت أن طفرة الجين p53 هي ظاهرة متكررة تحدث في حوالي نصف حالات سرطان القولون والمستقيم، تؤدي طفرة الجين p53 إلى ظهور بروتين غير طبيعي مع نصف عمر طويل مما يجعل اكتشافه سهلاً بواسطة التلوينات النسيجية الكيماوية المناعية، وهذا ما قمنا بتطبيقه على جميع العينات موضوع الدراسة. لكن يبدو أن الجين الطافر p53 يعمل كجين سرطاني سائد، حيث يرتبط حذف الذراع القصير للصبغي 17P الحامل P53 والطفرة النقطية مع الغزو الوعائي والنقائل البعيدة ومعدل بقاء أقل [12].

أظهرت العديد من الدراسات أن فرط تعبير P53 يرتبط بإنذار سيء عند مرضى سرطان القولون والمستقيم [13] بينما أظهرت دراسات أخرى علاقة تعبير P53 بإنذار سرطان القولون الايسر فقط مع معدل بقاء أقل [14]. يتوافق هذا مع ما وجدناه في العينة المدروسة، كانت الايجابية أعلى في القولون الايسر بنسبة 75% مع  $p\text{-value} < 0.05$ ، بالنسبة لدرجة الورم النسيجية، وجدت دراسات أنه في أكثر من 70% من حالات سرطان القولون والمستقيم سيئة التمايز هناك فرط تعبير P53 بالمقارنة مع السرطانات جيدة ومتوسطة التمايز بأقل من 30%. [15]، بعكس دراستنا التي لم تظهر أي قيمة لمستوى الدلالة يتعلق بتمايز الورم أو درجته النسيجية.

لا يستبعد غياب التعبير النووي عن البروتين P53 دائماً" عدم وجود طفرة الجين الموافق، حيث أن تعبير الجين شائع في الطفرات التي تزيد من ثبات البروتين مما يجعل اكتشافه سهلاً" بواسطة التحاليل النسيجية الكيماوية المناعية. بينما لا يمكن اكتشاف الطفرات التي تنتج حذفاً أو اقتطاعاً" أو غياب البروتين عن طريق IHC، ولكن يمكن كشفها فقط بالطرق الجزيئية، وهذه الطرق غير متاح استعمالها في الدراسة. [16, 17]

في دراستنا كان 51.25% من الحالات سلبية على البروتين P53، يمكن تفسير هذه النتيجة، إما أن الجين المشفر للبروتين P53 لم يعاني من طفرة، أو يمكن أن تكون عانت الجين من طفرة أخفت التعبير الجيني عن البروتين P53 بسبب الحذف أو اقتطاع جزء من الجين المعني، تم اكتشاف الملون المعبر عن البروتين P53 في 48,75% من جميع الأورام المدروسة، عندما قمنا بتحليل تعبير P53 حسب حجم الورم، أظهرت عينات الورم تلوينا "نوياً" قوياً" ومتميزاً" للبروتين P53 في 65% من الأورام التي يزيد حجمها عن 5 سم مع  $p\text{-value} < 0.05$ ، عندما قمنا بتحليل تعبير P53 حسب مرحلة الورم أظهر البروتين أيضاً" معدل إيجابي أعلى بشكل ملحوظ في الأورام ذات المراحل المتقدمة pT3، pT4 (54.5%، 31.8%) مع  $p\text{-value} < 0.05$ .

نلاحظ من النتائج السابقة أنه ترتبط إيجابية تعبير P53 مع عوامل انذار سيئة مثل الحجم الأكبر من 5 سم ومراحل الورم المتقدمة أو المرحلة السريرية. بالمقابل لم يتم العثور على فرق احصائي ذو دلالة فيما يتعلق بنمط الورم النسيجي، تمايز الورم، ونقائل العقد اللمفية أو النقائل البعيدة، تتوافق هذه النتائج مع دراسة أجريت في الصين [18]، ضمت 126 مريضاً تم تشخيص إصابتهم بسرطان القولون والمستقيم بين عامي 2000-2007. حيث تم اكتشاف تعبير الجين P53 في 55.56% من جميع الأورام وكانت الإيجابية أعلى في الأورام التي يزيد حجمها عن 5 سم بنسبة 68.42% وفي أورام المراحل السريرية المتقدمة T3, T4

عندما قمنا بتحليل تعبير الجين P53 حسب موقع الورم، كانت الإيجابية أعلى في القولون الأيسر بنسبة 75% مع  $p < 0.05$  value، هذا يتوافق مع دراسة أجريت في أوغندا [19]، ضمت 109 حالات، عام 2008. حيث كانت أورام القولون الأيسر إيجابية P53 بنسبة 55.7% أعلى من الجانب الأيمن (44.3%)، كما تم التعبير عن الجين P53 في الأورام جيدة التمايز والأورام الغدية غير المخاطية لكن مع عدم وجود فرق احصائي ذو دلالة. تمثل عائلة البروتينات (MCL1، BCLX، Bcl2) مفتاح تنظيم الموت الخلوي المبرمج، والتي يمكن أن يسبب خلل تنظيمها عواقب مرضية مختلفة بما فيها تطور السرطان. البروتين Bcl-2 عضو هام في هذه العائلة يتوضع في الشبكة الهيولية الباطنة والمنقدرات والغلاف النووي، يكون التعبير في نسيج القولون والمستقيم عن Bcl-2 مرتفعاً في قاعدة الخلايا المعوية كما يلعب دوراً هاماً في العمليات الخلوية مثل تنظيم دورة الخلية وإصلاح الحمض النووي وتحريض البلعمة الذاتية [20].

حتى الآن ما يزال السؤال مفتوحاً فيما إذا كان Bcl-2 يؤثر على بدء سرطان القولون وتطوره وانتشاره، تشير بعض الدراسات إلى أن تعبير Bcl-2 قد يرتبط بإنذار سيء لسرطان القولون والمستقيم بينما لم يجد آخرون أي قيمة إنذارية هامة له [21].

نلاحظ من خلال دراستنا أن الملون Bcl-2 كان إيجابياً في 55% من سرطانات القولون والمستقيم، وعندما قمنا بتحليل علاقة تعبير إيجابية Bcl-2 مع مرحلة الورم، كانت هناك علاقة ذات دلالة إحصائية، مع قيمة معنوية  $p < 0.05$  value، حيث كانت إيجابيته أعلى في المرحلة pT2 منه في المراحل المتقدمة بنسبة إيجابية 100%. وعند دراسة علاقة تعبير Bcl-2 مع حالة العقد اللمفية كان المعدل الإيجابي ل Bcl-2 أعلى في حالة الأورام التي لم تعطي نقائل للعقد أي N0 بنسبة مرتفعة 83.8%. تتوافق هذه النتائج مع دراسة أجريت في الصين [22]، تضمنت 93 حالة من سرطانات القولون والمستقيم، عام 2005. حيث كان معدل إيجابية Bcl-2 57% وكان المعدل الإيجابي في حالات إصابة العقد اللمفاوية أقل من الحالات غير المصابة، وكانت هناك علاقة ذات دلالة إحصائية بين تعبير البروتين Bcl-2 ومرحلة الورم حيث كان التعبير أعلى في المراحل الباكرة (T1.T2). قامت هذه الدراسة أيضاً بتحليل حالة البروتينين معاً Bcl-2/P53، حيث كان لدى المجموعة التي تضمنت (Bcl-2/-P53) أفضل إنذاراً. [23]

لم نعتز هذه الدراسة على ارتباط بين تعبير Bcl-2 والعوامل التالية: جنس المريض، وحجم الورم، وهذا يخالف دراستنا حيث كانت الإيجابية مرتفعة عند الإناث بنسبة 70.3% مع  $p < 0.05$  value. وعندما درسنا العلاقة مع حجم الورم كانت الإيجابية أعلى لدى الأورام ذات الأحجام المساوية أو الأصغر من 5 سم بنسبة 97.5%. بالمقابل لم نعتز على فروقات ذات دلالة إحصائية بالنسبة للعوامل الآتية: العمر، تمايز الورم، موقع الورم والنقائل البعيدة. تشير هذه النتائج إلى أن الأورام المعبرة عن إيجابية Bcl-2 هي أقل عدوانية وتقدم من مرحلة إلى أخرى بسرعة، قد يكون انذارها أفضل للمرضى، قد يكون السبب هو حماية هذا البروتين للخلايا من الموت المبرمج وبالتالي يسرع نمو وكبر الورم مما يسمح بالتعبير السريري الباكر للورم، بالتالي التشخيص المبكر والعلاج قبل غزو الجدار الشديد وإعطاء نقائل بعيدة أو لمفية.

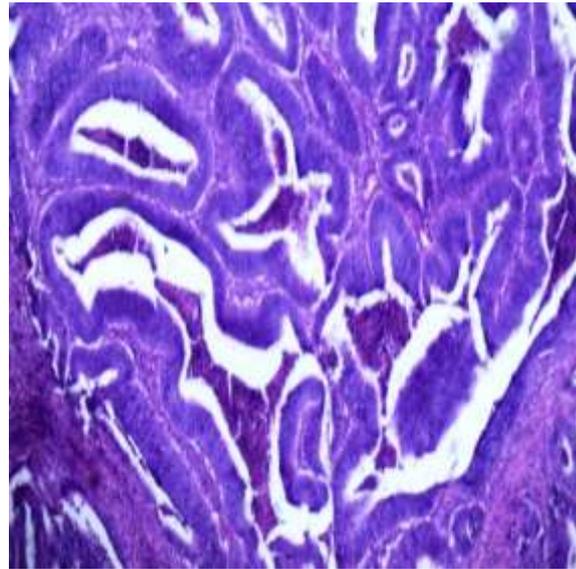
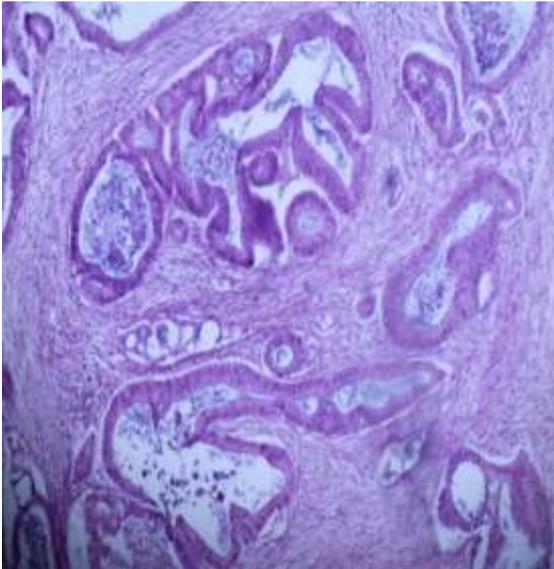
وجد في سرطان القولون والمستقيم نتائج متناقضة لارتباط Ki-67 مع معايير الإنذار والبقاء على قيد الحياة. حيث بينت بعض الدراسات عن سوء إنذار أورام القولون والمستقيم ذات مؤشر النكاثر العالي [24,25]. بينما قامت دراسات أخرى بقياس النشاط النكاثري بعد التشعيع (قبل الجراحة) في سرطان المستقيم. ولاحظوا أن المرضى الذين أظهرت أورامهم نشاطاً تكاثرياً أعلى بعد العلاج الإشعاعي كان إنذارهم أفضل [31] تم اقتراح عدة تفسيرات لهذه التناقضات، بما في ذلك الإجراءات قبل العمل الجراحي، في عينات ورم المستقيم، تبين أن تنظيف القولون قبل الجراحة بالملينات والحقن الشرجية يحفز نشاط النكاثر المخاطي [26]. يشير تفسير آخر إلى أن عمليات النقرح قد تزيد من النشاط النكاثري عند الحدود اللمعية، مما يؤدي إلى زيادة تعبير Ki-67 [27].

تم تحري Ki-67, P53 مع متابعة سريرية لمدة 46 شهر في دراسة على 1800 مريض، لدى كل المرضى سرطان مستقيم وقولون ومعالجين في جامعات ألمانية 1988-2006 (هامبورغ)، نشرت الدراسة عام 2016. حيث اعتمدت على تقسيم قيمة مشعر Ki67 إلى 3 مجموعات: منخفض (0-10%)، معتدل (10-25%)، مرتفع (> 25%) أشارت إلى أن تعبير Ki67 مرتبط بمرحلة الورم ( $p < 0.0001$ ) ونقائل العقد اللمفية ( $p = 0.0315$ ) وليس بدرجة تمايز الورم، النمط النسيجي أو موقع الورم، وجد في الدراسة أن الإيجابية العالية Ki-67 تدل على إنذار أفضل للورم، ويشير التعبير الزائد للواسمات Ki-67, P53 على المعدل النكاثري الخلوي الشديد، هي واسمات ورمية جيدة للتكهن بالتقييم الإنذاري للورم. [28]

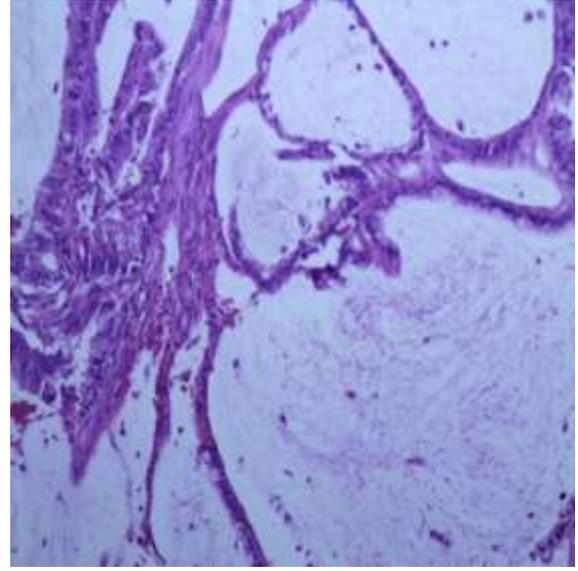
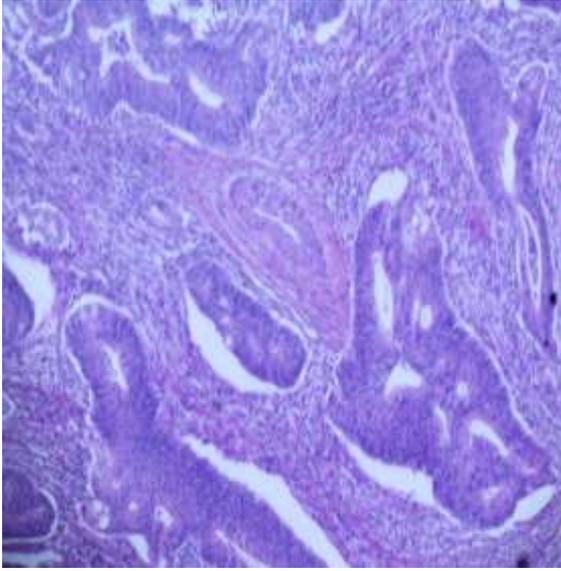
كذلك الأمر في دراستنا، نلاحظ وجود فروقات ذات دلالة إحصائية عند الربط بين تعبير Ki-67 ومرحلة الورم ( $p = 0.02$ ) وجود نقائل للعقد اللمفية ( $p = 0.04$ )، أي يسوء إنذار الأورام الإيجابية بزيادة مشعر الإنقسام وخاصة في الأورام المتقدمة بالمرحلة السريرية والأورام التي اعطت نقائل لمفية، بينما ثبت عدم وجود فروقات ذات دلالة إحصائية عند الربط ما بين تعبير Ki-67 والنمط النسيجي، الدرجة النسيجية، الحالة الديموغرافية، ووجود نقائل بعيدة.



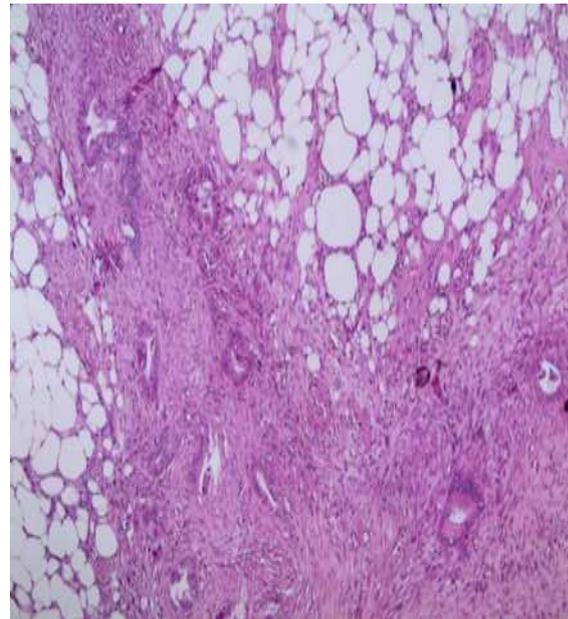
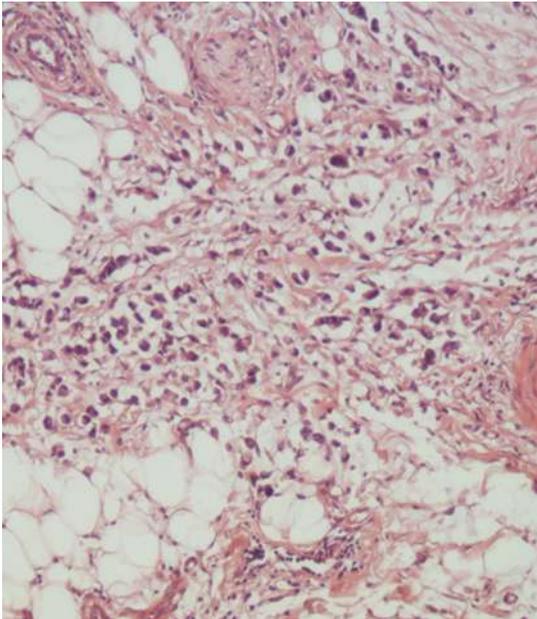
الشكل (2) المظهر العياني لسرطان، ورم كبير تنمو في المعدة Exophytic growth. الشكل (3) المظهر العياني لسرطان غدية في المستقيم excavated adenocarcinoma of rectum، حوافها الخارجية مرتفعة ومتقرحة المركز



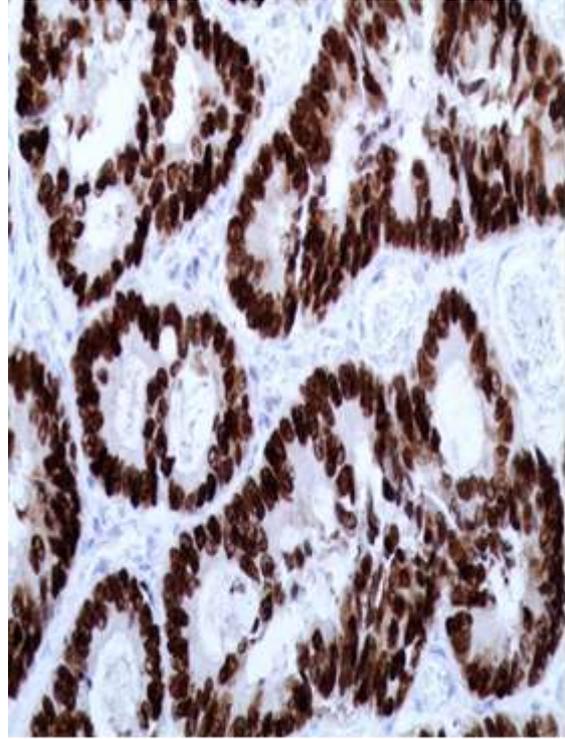
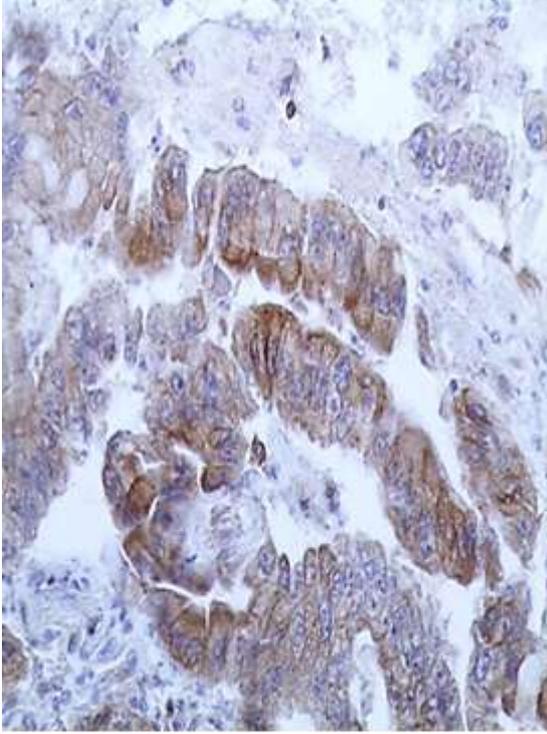
الشكل (4) سرطان غدية جيدة التميز (انبوية حلمية) تلوين H&E تكبير 40. الشكل (5) سرطان غدية جيدة التميز تلوين H&E تكبير 40



الشكل (6) سرطانة غدية مخاطية تلوين H&E تكبير 100 الشكل (7) سرطانة غدية متوسطة التميز تلوين H&E تكبير 40

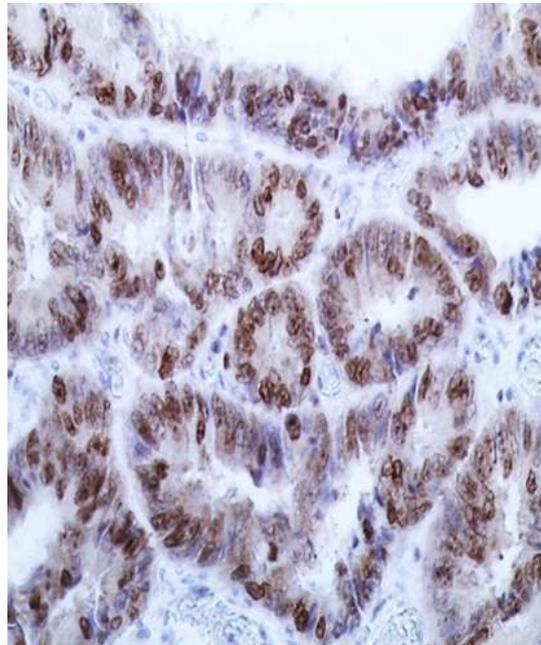


الشكل (8) غزو الغلالة الخارجية والنسيج الشحمي المساريقي تلوين H&E تكبير 40 الشكل (9) سرطانة خلايا الخاتم ذات الفص ترتشح في شحم المساريقا 100 (H&E)



الشكل (11) تلويحات نسيجية كيماوية مناعية Bcl-2 الإيجابية متباينة من المتوسطة تكبير 200

الشكل (10) تلويحات نسيجية كيماوية مناعية P53 إيجابية بشدة، تكبير 200.



الشكل (12) تلويحات نسيجية كيماوية مناعية إيجابية Ki-67، تكبير 200 الإيجابية أكبر من 80%.

## الاستنتاجات والتوصيات

### الاستنتاجات

1- يرتبط تعبير خلايا سرطان القولون عن الجين المشفر للبروتين P53 بعوامل الإنذار التالية: التوضع (القولون الأيسر 75% مع  $p$ -value < 0.05)، مرحلة تطور الورم السريرية (pT4, pT3) (54.5%، 31.8%) مع  $p$ -value < 0.05)، و حجم الورم < 5 سم (75% مع  $p$ -value < 0.05).  
2- لا يرتبط التعبير عن الجين الخاص بالبروتين P53 بالنمط النسيجي، تمايز الورم، ونقائل العقد اللمفية أو النقائل البعيدة.

3- سلبية تعبير البروتين P53 المطفور لا يدل على غياب تغير أو طفرة في الجين، إنما قد يكون سبب الغياب إزالة أو حذف الجين، كانت العينات لدينا سلبية في 51.25%، وبالتالي لا يعني إنذار جيد للورم.

4- كانت إيجابية البروتين Bcl-2 في 55% من سرطانات القولون والمستقيم في عيناتنا، لكن هذه الإيجابية أعطت قيمة إحصائية لمستوى الدلالة فيما يتعلق بمرحلة الورم حيث ظهرت في 100% من السرطانات في المرحلة pT2- p-value < 0.05، والعلاقة مع حالة العقد اللمفية النسبة الأعلى 83.8% كانت في N0، الإيجابية مرتفعة عند الاناث بنسبة 70.3% مع  $p$ -value < 0.05. وعندما درسنا علاقه مع حجم الورم كانت الإيجابية أعلى لدى الاورام ذات الاحجام الأصغر أو تساوي 5 سم بنسبة 97.5%.

5- ليس هناك فروقات ذات دلالة احصائية مرتبطة بإيجابية الاختبار Bcl-2 بالنسبة للعوامل الآتية: العمر، تمايز الورم، موقع الورم والنقائل البعيدة.

6- بغض النظر عن قيمة مشعر التكاثر (حالة Ki-67) ليس هناك تأثير على إنذار الورم مهما اختلفت النمط النسيجي أو الدرجة النسيجية أو عمر وجنس المريض أو حالة وجود نقائل بعيدة. يسوء إنذار الأورام الإيجابية بزيادة مشعر الانقسام وخاصة في الأورام المتقدمة بالمرحلة السريرية والأورام المعطية نقائل لمفية

7- عانى أكثر من نصف المرضى من نقائل لمفية (53.75%) عند التشخيص، والنسبة الغالبة من الحالات كانت بمرحلة متقدمة من غزو جدار الأمعاء لحظة والاستئصال PT4, PT3 (96%). مع العلم أن نسبة الأورام جيدة التميز ومتوسطة التميز (G2, G1) 90%.

### التوصيات

1- تعني ايجابية تعبير الجين الكابت الورمي المشفر للبروتين P53 سوء إنذار الورم وضرورة التعامل معه بعدوانية وحذر شديد.

2- تشير نتائج إيجابية Bcl-2 في التحاليل النسيجية الكيماوية المناعية لسرطانات القولون والمستقيم على أن الورم ما زال في مراحل نموه الأولية عموماً، ويتم قمع عملية الموت المبرمج في خلايا الورم، لذلك من الضروري الإسراع في العلاج الورمي الجراحي وغير الجراحي قبل تطوره وغزوه محلياً ولمفياً من أجل تحسين الإنذار.

3- يدل وجود مشعر انقسام عال (Ki-67+) على بلوغ الورم مرحلة تطور متقدمة أي عدوانية شديدة، مما يحتم التعامل معه بهجومية علاجية مناسبة، وذلك بغض النظر عن النمط النسيجي، الدرجة النسيجية، الجنس، العمر ووجود نقائل بعيدة.

- 4-ضرورة استعمال التحاليل الجزيئية لمعرفة الطفرة الجينية الدقيقة المرافقة لنشوء السرطان الغدي في القولون والمستقيم، وخاصة سلبية P53.
- 5-تشخيص معظم سرطانات القولون والمستقيم في المراحل المتأخرة من المرض يضع مسؤولية أطباء الهضمية على المحك، من أجل العمل على تشخيص الباكر لأورام القولون والمستقيم بشتى الوسائل وتوسيع مروحة التفقيش عن خباثات القولون والمستقيم بما فيها التنظير الهضمي الاستقصائي لدى مراجعي العيادة الهضمية.

## Reference

- 1-Siegel R, Ward E, Brawley O, et al. Cancer statistics, 2011: the impact of eliminating socioeconomic and racial disparities on premature cancer deaths. *CA Cancer J Clin* 2011;61:212-36
- 2-Colorectal Cancer: Overview [Internet] Cancer.net; 2015 [19 October 2015]. Available from:<http://www.cancer.net/cancer-types/colorectal-cancer/overview>
- 3-HAMILTON S. R., VOGELSTEIN B., KUDO S., RIBOLI E., Carcinoma of the colon and rectum. In: HAMILTON S. R., AALTONEN L. A. (eds), Pathology and genetics of tumours of the digestive system. World Health Organization Classification of Tumours, IARC Press, Lyon, 2001, 105–119.
- 4-IONESCU D. N., PAPACHRISTOU G., SCHOEN R. E., HEDGE M., RICHARDS C. S., MONZON F. A., attenuated familial adenomatous polyposis: a case report with mixed features and review of genotype–phenotype correlation, *Arch Pathol Lab Med*, 2005, 129(11):1401–1404
- 5-JASS J. R., What's new in hereditary colorectal cancer?, *Arch Pathol Lab Med*, 2005, 129(11):1380–1384
- 6- AALTOREN L. A., PELTOMÄKI P., LEACH F. S., SISTONEN P., PYLKKÄNEN L., MECKLIN J. P., POWELL S. M., JEN J., HAMILTON S. R., ET AL., Clues to the pathogenesis of familial colorectal cancer, *Science*, 1993, 260(5109):812–816.
- 7-Lagerstedt Robinson K, Liu T, Vandrovicova J, et al. Lynch syndrome (hereditary non-polyposis colorectal cancer) diagnostics. *J Natl Cancer Inst* 2007;99:291-9
- 8-Hamilton SR, Bosman FT, Boffetta P, et al. Carcinoma of the colon and rectum. In: WHO Classification of Tumours of the Digestive System. Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND, eds. Lyon: IARC Press, 2010:134-46
- 9-Compton CC . Updated protocol for the examination of specimens removed from patients with colorectal carcinoma. *Arch Pathol Lab Med* 2000; 124: 1016–1025.
- 10 -Itzkowitz SH, Present DH. Consensus conference: colorectal cancer screening and surveillance in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2005;11:314-21
- 11-Huerta S. Recent advances in the molecular diagnosis and prognosis of colorectal cancer. *Expert Rev Mol Diagn*. 2008;8:277–88
- 12-Bosari S, Viale G, Bossi P, Maggioni M, Coggi G, Murray JJ, Lee AK. Cytoplasmic accumulation of p53 protein: an independent prognostic indicator in colorectal adenocarcinomas. *J Natl Cancer Inst*. 1994 May 4;86(9):681–687
- 13-Rosati G, Chiacchio R, Reggiardo G, De Sanctis D, Manzione L. Thymidylate synthase expression, p53, bcl-2, Ki-67 and p27 in colorectal cancer: relationships with tumor recurrence and survival. *Tumour Biol*. 2004;25(5–6):258–63.
- 14-Smith FM, Stephens RB, Kennedy MJ, Reynolds JV. P53 abnormalities and outcomes in colorectal cancer: a systematic review. *Br J Cancer*. 2005;92:1813.

- 15-Watson AJ. Apoptosis and colorectal cancer. *Gut*. 2004;53:1701–1709
- 16-Melincovici CS, Mihiu CM, Mărginean M, Boşca AB, Coneac A, Moldovan I, Crişan M. The prognostic significance of p53, Bax, Bcl-2 and cyclin E protein overexpression in colon cancer - an immunohistochemical study using the tissue microarray technique. *Rom J Morphol Embryol*. 2016;57:81–89.
- 17-Tsamandas AC, Kardamakis D, Petsas T, Zolota V, Vassiliou V, Matatsoris T, Kalofonos H, Vagianos CE, Scopa CD. Bcl-2, bax and p53 expression in rectal adenocarcinoma. Correlation with classic pathologic prognostic factors and patients' outcome. *In Vivo*. 2007;21:113–118.
- 18-The potential of carcinoembryonic antigen, p53, Ki-67 and glutathion Stransferase- $\pi$  as clinico-histopathological markers for colorectal cancer..Zhenyu He,a,d Chuanbing Shi,b Hao Wen,a Fanglong Li,a Baolin Wang,a and Jie Wangc,d,\**J Biomed Res*. 2010 Jan; 24(1): 51–57.
- 19- p53 expression in colorectal carcinoma in relation to histopathological features in Ugandan patients.Peter F Rambau,1 Michael Odida,2 and Henry Wabinga2. *Afr Health Sci*. 2008 Dec; 8(4): 234–238
- 20-Melincovici CS, Mihiu CM, Mărginean M, Boşca AB, Coneac A, Moldovan I, Crişan M. The prognostic significance of p53, Bax, Bcl-2 and cyclin E protein overexpression in colon cancer - an immunohistochemical study using the tissue microarray technique. *Rom J Morphol Embryol*. 2016;57:81–89.
- 21-Tsamandas AC, Kardamakis D, Petsas T, Zolota V, Vassiliou V, Matatsoris T, Kalofonos H, Vagianos CE, Scopa CD. Bcl-2, bax and p53 expression in rectal adenocarcinoma. Correlation with classic pathologic prognostic factors and patients' outcome. *In Vivo*. 2007;21:113–118.
- 22-Prognostic significance of bcl-2 and p53 expression in colorectal carcinoma.Dan-ping Zhao, Xiao-wen Ding, Jia-ping Peng, Yi-xiong Zheng, and Su-zhan Zhang. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2005 Dec; 6(12): 1163–1169.
- 23- Saleh HA, Jackson H, Banerjee M. Immunohistochemical expression of bcl-2 and p53 oncoproteins: correlation with Ki67 proliferation index and prognostic histopathologic parameters in colorectal neoplasia. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2000;8:175–82.
- 24-Guzińska-Ustymowicz K, Stepień E, Kemon A. MCM-2, Ki-67 and PCNA protein expressions in pT3G2 colorectal cancer indicated lymph node involvement. *Anticancer Res*. 2008;28:451–7
- 25-Willett CG, Warland G, Hagan MP, Daly WJ, Coen J, Shellito PC, Compton CC. Tumor proliferation in rectal cancer following preoperative irradiation. *J Clin Oncol*. 1995;13:1417-1424
- 26-Lehy T, Abitbol JL, Mignon M. Influence of rectal preparation by enema on cell proliferation in the normal rectal mucosa in man. *Gastroenterol Clin Biol*. 1984;8:216-221.
- 27-Palmqvist R, Sellberg P, Oberg A, Tavelin B, Rutegård JN, Stenling R. Low tumour cell proliferation at the invasive margin is associated with a poor prognosis in Dukes' stage B colorectal cancers. *Br J Cancer*. 1999;79:577-581
- 28-MELLING,N. KOWITZ,C.M. SIMON, R. BOKEMEYER, C. TERRACCIANO, L. SAUTER, G. IZBICKI, J. R. MARX, A.H. *High Ki67 expression is an independent good prognostic marker in colorectal cancer*. *J. Clin Pathol. Germany* VOL. 69, 2016, 209–214.